



FMUP FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

2017/2018

Belmiro Manuel Kabelevski Oliveira Alves

Mecanismos imunológicos na reabsorção espontânea de hérnias do disco intervertebral
Immunological mechanisms in the spontaneous resorption of the intervertebral disc hernias

março, 2018

FMUP

Belmiro Manuel Kabelevski Oliveira Alves

Mecanismos imunológicos na reabsorção espontânea de hérnias do disco intervertebral

Immunological mechanisms in the spontaneous resorption of the intervertebral disc hernias

Mestrado Integrado em Medicina

Área: Ortopedia

Tipologia: Monografia

Trabalho efetuado sob a Orientação de:

Dr. Jorge Alves

Trabalho organizado de acordo com as normas da revista:

Revista Portuguesa de Ortopedia e Traumatologia

março, 2018

Eu, Belmiro Manuel Kabeuskis Oliveira Alves, abaixo assinado, nº mecanográfico 2012012 76, estudante do 6º ano do Ciclo de Estudos Integrado em Medicina, na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, declaro ter atuado com absoluta integridade na elaboração deste projeto de opção.

Neste sentido, confirmo que **NÃO** incorri em plágio (ato pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria de um determinado trabalho intelectual, ou partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores, foram referenciadas, ou redigidas com novas palavras, tendo colocado, neste caso, a citação da fonte bibliográfica.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 02/04/2018

Assinatura conforme cartão de identificação:

Belmiro Alves

NOME

Belmino Manuel Kabelvski Oliveira Alves

NÚMERO DE ESTUDANTE

E-MAIL

2012 01276 belminoalves@hotmail.com

DESIGNAÇÃO DA ÁREA DO PROJECTO

ORTOPEDIA

TÍTULO ~~DESENVOLVIMENTO~~/MONOGRAFIA (riscar o que não interessa)

Mecanismos imunológicos na reabsorção espontânea de hérnias do disco Intervertebral

ORIENTADOR

Yorge Miguel Silva Ribeiro Oliveira Alves

COORDINADOR (se aplicável)

ASSINALE APENAS UMA DAS OPÇÕES:

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTES TRABALHOS APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.	<input type="checkbox"/>
É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTES TRABALHOS (INDICAR, CASO TAL SEJA NECESSÁRIO, Nº MÁXIMO DE PÁGINAS, ILUSTRAÇÕES, GRÁFICOS, ETC.) APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.	<input checked="" type="checkbox"/>
DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, (INDICAR, CASO TAL SEJA NECESSÁRIO, Nº MÁXIMO DE PÁGINAS, ILUSTRAÇÕES, GRÁFICOS, ETC.) NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTES TRABALHOS.	<input type="checkbox"/>

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 02/04/2018

Assinatura conforme cartão de identificação: Belmino Alves

Ao meu pai

À minha mãe

Aos meus irmãos

Aos meus sobrinhos

E ao meu avô Belmiro

Mecanismos imunológicos na reabsorção espontânea de hérnias do disco intervertebral

Immunological mechanisms in the spontaneous resorption of the intervertebral disc hernias

Belmiro M. K. O. Alves
Estudante de Medicina

Jorge M. S. R. O. Alves
Médico Especialista em Ortopedia e Traumatologia

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

Belmiro Alves
Rua Adelaide Estrada, 129 1ºB
4250-016, Ramalde, Porto
(+351)913022955
belmiroliveiralves@gmail.com

Os autores declaram inexistência de conflito de interesses na realização deste trabalho

Resumo

Está comprovado que as hérnias do disco intervertebral podem sofrer um fenómeno de reabsorção espontânea e existe evidência na literatura que este processo ocorre por mecanismos imunológicos. O disco intervertebral é o maior órgão avascular do organismo, sendo considerado um dos locais imunologicamente privilegiados do ser humano. Perspetiva-se que a violação deste estado imunologicamente privilegiado ocorrida durante a herniação poderá expor o conteúdo do disco intervertebral ao sistema imune e assim ser desencadeada uma resposta imunológica a fim de proceder à sua reabsorção.

O objetivo desta “monografia” visa a revisão da literatura e a sistematização dos possíveis mecanismos pelos quais a reabsorção das hérnias do disco intervertebral acontece.

A base de dados utilizada foi a PUBMED, onde foram selecionados artigos completos e revisões escritas em língua inglesa publicados entre 1953 e 2017. Os termos MeSH usados foram “*intervertebral disc*”, “*intervertebral disc displacement*”, “*spontaneous resorption*” “*immune system*”, isoladamente ou em combinação. A lista de referências dos artigos identificados foi também analisada na procura de mais artigos relevantes associados ao tema.

É consensualmente aceite que no processo de reabsorção das hérnias do disco intervertebral estão envolvidos fenómenos de neovascularização, quimiotaxia de células imunes e formação de um tecido de granulação, culminando num processo fagocitose do material herniado. Contudo, ainda existe controvérsia quanto ao tipo de imunidade implicada neste processo, pelo que quer a imunidade inata, quer a imunidade adaptativa poderão estar ambas implicadas.

Palavras-Chave: *Intervertebral Disc Displacement; Intervertebral Disc; Immune System; Immunology.*

Abstract

It has been proven that the intervertebral disc hernia may suffer a phenomenon of spontaneous resorption and there is evidence in literature that this is mediated by immunological mechanisms. The intervertebral disc is considered one of the human immunological privileged sites, being also the largest avascular organ in the human body. It is foreseen that the invasion of this immunologically privileged state that occurs during herniation may expose the IVD to the immune system hence triggering an immune response in order to promote its resorption.

The aim of this "monography" is to review literature and systematize the possible mechanisms by which the resorption of the intervertebral disc hernia occurs.

The database used was PUBMED where full text articles and English-written reviews published between 1953 and 2017 were preferred. The MeSH terms used were ‘*intervertebral disc*’, ‘*intervertebral disc displacement*’, ‘*spontaneous resorption*’ and ‘*immune system*’ either alone or in combination. The references of the articles were also considered when searching for the most relevant articles.

It is widely accepted that the resorption process of the herniated disc implies mechanisms such as neovascularization, chemotaxis of immune cells and synthesis of a granulated tissue culminating in the phagocytosis of the herniated material. However, there is controversy as to which immunity is implicated in this process thus both innate immunity and adaptive immunity may be involved.

Introdução

A lombalgia e a dor ciática são uma das principais causas de incapacidade da população mundial, observando-se uma prevalência de 11,9%. [1] Aproximadamente 84% da população experiencia pelo menos um episódio de lombalgia ao longo da sua vida. [2] A hérnia do disco intervertebral (HDIV) é considerada como a principal causa de lombalgia e dor ciática. [3]

A evolução dos meios auxiliares de diagnóstico permitiu uma melhoria na avaliação e orientação de doentes com HDIV. Tornou-se evidente que em certos doentes estas regredem espontaneamente. [4-6] Numa meta-análise que incluía 11 estudos, *Zhong et al.* verificou que 67% das hérnias discais lombares são reabsorvidas espontaneamente. [7] Normalmente a regressão espontânea associa-se ao alívio sintomático. [6] A capacidade de prever quais os doentes com maior probabilidade de regressão das HDIV vai permitir melhorar o aconselhamento do doente relativamente ao tratamento, evitando cirurgias desnecessárias, com morbilidade, riscos e custos conhecidos.

O disco intervertebral (DIV) é uma estrutura única, com capacidade de absorver choques e de resistir à deformação induzida pela carga. É composto por uma estrutura externa rígida, designada anel fibroso (AF), e uma estrutura interna gelatinosa, chamada núcleo pulposo (NP). O AF é composto principalmente por colagénio, enquanto o NP é constituído por proteoglicanos, maioritariamente agrecanos. Tem sido sugerido que o processo degenerativo se inicia no NP e depende da perda de proteoglicanos. [8] Geralmente, as HDIV ocorrem no contexto da degeneração do DIV. [9] Com as recorrentes agressões biomecânicas, aliadas à perda da homeostasia na composição do DIV, o AF acaba por romper, ocorrendo a falência da sua integridade e permitindo o extravasamento do NP. [10]

Ainda são desconhecidos os mecanismos concretos responsáveis pelo processo de reabsorção espontânea das HDIV. Várias hipóteses foram sugeridas, das quais realçamos a desidratação do tecido herniado, o repuxamento pelo ligamento longitudinal posterior (LLP) e o envolvimento de uma resposta imune. Independentemente destas hipóteses, foram encontrados vários fatores associados à maior probabilidade da ocorrência a regressão espontânea das HDIV.

Material e Métodos

A base de dados utilizada foi a PUBMED, onde foram selecionados artigos completos e revisões escritas em língua inglesa publicados entre 1953 e 2017. Os termos usados foram “*intervertebral disc*”, “*intervertebral disc displacement*”, “*spontaneous resorption*” “*immune system*”, isoladamente ou em combinação. A lista de referências dos artigos identificados foi também analisada na procura de mais artigos relevantes associados ao tema.

Discussão

1. Mecanismos de reabsorção hipotéticos

Uma das hipóteses propostas na literatura para a regressão espontânea das HDIV é a da desidratação, ocorrendo uma redução do tamanho do NP herniado após esse fenómeno. [11] Através de RMN, observa-se numa fase inicial que a intensidade de sinal do NP herniado aumenta em relação à do NP original, diminuindo de seguida com o tempo. [12] Esta perda de intensidade de sinal nas ponderações em T2 da RMN suporta a hipótese da desidratação. [12, 13] Quando a intensidade de sinal é inicialmente elevada

nas imagens em T2, a probabilidade da regressão do tamanho da hérnia é maior, comparativamente aos casos em que a intensidade de sinal inicialmente é baixa. Isto leva a inferir que a intensidade de sinal pode ser um bom preditor da redução espontânea do HDIV.[12, 14] No entanto, a desidratação ao contribuir para uma redução do tamanho da HDIV, não explica os casos de desaparecimento completo do fragmento livre.[11]

Outra hipótese sugerida pressupõe a ocorrência de um fenómeno de retração mecânica do material herniado, retornando para o interior do DIV,[4, 15] possivelmente através de uma variação de tensão no LLP[13] e também por um possível fenómeno de negativização da pressão do espaço intradiscal, levando ao repuxamento espontâneo do material herniado.[13, 15] Contudo, como descreveremos mais à frente, a reabsorção espontânea das HDIV ocorre mais frequentemente quando estas se encontram sequestradas, estando neste caso totalmente separadas do próprio LLP.[16] Estes achados sugerem que a teoria do repuxamento do conteúdo herniado pelo LLP não se adequa na fundamentação de um mecanismo para a regressão espontânea de todas as HDIV.

Por último, a hipótese que relaciona o envolvimento do sistema imune no processo de reabsorção espontâneo das HDIV permanece a mais aceite pela comunidade científica. Conquanto, o próprio sistema imune é um vasto e complexo domínio gerador de múltiplas e distintas respostas, muitas vezes interligadas, que iremos relacionar com o seu possível envolvimento naquele processo. De um modo geral, permanece controvérsia na abordagem a este assunto pelos vários autores. A divergência de opiniões centra-se em duas hipóteses para o mecanismo imunomediado responsável pela reabsorção espontânea do DIV. Uma considera o envolvimento da imunidade inata, com a formação de uma resposta inflamatória direccionada ao NP. Outra foca a resposta secundária da imunidade adaptativa, com a formação de uma resposta autoimune direccionada ao NP.

2. DIV imunoprivilegiado

O DIV é a maior porção de tecido avascular do adulto, estando por esse motivo isolado do sistema imune do hospedeiro.[16, 17] Ao ser considerado um dos locais imunoprivilegiados do ser humano, a existência de células imunológicas no seu interior é sinal de rotura da barreira imunológica. O ambiente imunologicamente privilegiado do DIV não se deve apenas a uma simples barreira física entre os tecidos do DIV e a circulação sanguínea, mas também à envolvimento de uma série de mecanismos moleculares contribuidores para uma barreira fisiológica.[17, 18]

O Fas Ligando (FasL) é expresso na superfície celular de linfócitos T citotóxicos (CTL), células *Natural Killer* (NK) e em locais imunologicamente privilegiados.[17] Atua causando a morte apóptica de células que expressam o seu recetor, por meio da ativação de uma cascata de caspases.[19] Foi comprovado que o FasL existe nas células do DIV, particularmente nas células do NP.[20] As células do NP saudáveis sobrerregulam o FasL, induzindo a apoptose de células endoteliais vasculares, macrófagos e CTL que invadem o DIV.[17, 18] Outro dado também relevante é que a expressão do FasL nas células do NP saudável é significativamente superior em relação ao NP degenerado.[17] Por outro lado, a expressão de FasL nas células do NP de HDIV contidas foi significativamente superior em relação às HDIV extrusas.[20]

Portanto, a expressão do FasL nas células do NP humano ao prevenir a neovascularização[18] e a infiltração de células inflamatórias no DIV, através da

indução da apoptose Fas-mediada,[17] mantem o estado avascular do NP e, consequentemente, a preservação do estado imunologicamente privilegiado, comprovando que existe uma barreira fisiológica suportada pela rede FasL-RecetorFas.

Outro fator que pode contribuir para um estado imunoprivilegiado do DIV é uma expressão de citocinas típicas de uma resposta do tipo Th2 pelas células do DIV. Esta evidência foi encontrada num estudo imunohistoquímico onde foi observado que as próprias células do DIV são positivas para os marcadores de linfócitos T e expressam citocinas típicas de uma resposta do tipo Th2 em HDIV contidas.[21]

Por outro lado, também foi descoberto que reações oxidativas em NP desnutridos podem levar à alteração fenotípica precoce das células residentes do NP, levando à expressão de propriedades fagocíticas. *Nerlich et al.* detetou células CD68+ em DIV degenerados sem hérnia associada, particularmente no NP e, em menor frequência, no AF. Morfológicamente, estas células CD68+ não diferem dos condrócitos do NP, assemelhando-se a células residentes transformadas com potencial fagocítico. É de destacar que foram observados aglomerados destas células particularmente em áreas de crescimento vascular. [22] Num outro estudo, *Chen et al.* observou células do NP fagocíticas com características intermédias entre macrófagos e células NP, possuindo uma maior quantidade de lisossomas que as células típicas do NP, assemelhando-se a histiócitos. Estes resultados sugerem que as células do NP, ao possuírem um potencial fagocítico capaz de eliminar células apoptóticas e porções de matriz extracelular danificada, podem contribuir para a manutenção do estado imunologicamente privilegiado do DIV.[23]

3. Grau da Herniação

Na tentativa de compreender os mecanismos responsáveis pela reabsorção espontânea das HDIV, diversos estudos procuraram estabelecer padrões e relacionar fatores que contribuem para este fenómeno.

Estudos recentes sugerem que o dano da plataforma cartilágnea predispõe o DIV à degeneração,[24] sendo mais severo nos DIV herniados comparativamente àqueles em que não ocorre herniação, sugerindo o possível envolvimento das plataformas cartilágneas na patogenia das HDIV. Neste sentido, verificaram que a falência na HDIV ocorreria mais frequentemente devido a avulsão da plataforma cartilágnea do que por rotura do AF. O tamanho da porção avulsa não se correlacionou com o tamanho da herniação, podendo pequenas avulsões originar hérnias de grandes dimensões.[25] As lesões da plataforma cartilágnea são mais comuns em doentes com HDIV sintomáticas, estando associadas a uma maior percentagem de doentes com défices neurológicos e à diminuição das hipóteses de recuperação pelo tratamento conservador. [26]

As HDIV podem ser classificadas de acordo com o seu grau de severidade. Numa perspectiva crescente de gravidade, podem ser consideradas abaulamentos de disco, protusões (P), extrusões subligamentares (ES), extrusões transligamentares (ET) ou sequestros (S). De um modo geral, há uma maior tendência para a reabsorção espontânea com a evolução do grau da HDIV, sendo esta mais evidente nas ET e S.[5, 16, 27, 28]

Fatores como o tamanho da hérnia, o grau de preservação do LLP, a extensão e a migração do seu conteúdo correlacionam-se significativamente com a diminuição do volume dos DIV herniados e a consequente reabsorção.[28]. Dentro destes, o grau de preservação do LLP parece ser o que tem maior impacto como fator contributivo para a

regressão espontânea da HDIV, distinguindo as ET e S das restantes.[27] Deste modo, tendo em conta a integridade do LLP, ao longo do presente trabalho consideraremos as P e ES como HDIV contidas (HDIVC), enquanto as ET e as S serão consideradas como HDIV extrusas (HDIVE), de modo a facilitar a compreensão das temáticas abordadas.

4. Neovascularização

A existência de neovascularização na periferia do NP herniado parece ser o maior determinante na reabsorção espontânea da HDIV.[29, 30]

No sentido de compreender como ocorre o processo de neovascularização foram estudados os fatores angiogénicos responsáveis. Entre os quais damos um especial destaque ao bFGF e ao VEGF, deixando algumas notas acerca do CXCL8. De realçar que foram observadas associações entre as citocinas inflamatórias, nomeadamente o $TNF\alpha$, a IL-1 β e a IL-6, e os fatores angiogénicos descritos. [30-33] (Figura 1) (Tabela 1)

O bFGF é expresso em condrócitos degenerados e em vasos sanguíneos formados nos tecidos de granulação.[32, 34, 35] O bFGF estimula a neovascularização e a quimiotaxia de macrófagos, linfócitos e fibroblastos. [32, 36-38] Os níveis de bFGF relacionam-se diretamente com a neovascularização, sendo este um potente promotor da angiogénese.[32] Na verdade, promove o crescimento de vasos sanguíneos para o interior dos DIV lesados,[36] através da indução das células endoteliais capilares a invadir matrizes de colagénio, formando túbulos característicos de capilares sanguíneos.[38] A angiogénese dependente deste fator parece atuar em resposta à agressão ao DIV.[34] De facto, a expressão de bFGF associa-se à atividade proteolítica da matriz extracelular do DIV,[34, 35] pelo que é um dos mediadores no processo de reabsorção da HDIV.[37]

Relativamente ao VEGF foi demonstrado que ocorre um aumento da sua expressão em estádios precoces da HDIV.[39] Este é produzido pelas células do DIV e por macrófagos, enquanto as células endoteliais vasculares expressam os seus recetores.[40] A interação entre os macrófagos e os tecidos do DIV levam à indução do VEGF e à consequente estimulação da formação de mais vasos sanguíneos. Este fenómeno foi observado num estudo de cocultura de macrófagos e células do DIV onde a neovascularização foi mais abundante, em comparação à sua cultura isolada, o que demonstra a existência de uma sinergia entre elas para a sobre-regulação daquele fator angiogénico. [40] Os macrófagos surgem no tecido de granulação decorrente do processo inflamatório verificando-se a existência de vasos sanguíneos a proliferar em seu redor. A angiogénese e a infiltração macrofágica aumentam com a proliferação de células produtoras de VEGF,[41] levando a concluir que o VEGF promove a quimiotaxia de monócitos,[40] originando um feedback positivo entre o número de macrófagos e a sua produção.

A expressão de células positivas para o VEGF e seus recetores no NP humano foi superior nos grupos de doentes com HDIV, sendo que nestes a expressão foi máxima em doentes com HDIV extrusa para o espaço epidural.[40]

A IL-6 é uma citocina pró-inflamatória que estimula o crescimento e a proliferação de vários tipos de células imunes durante as respostas imunológicas de defesa do organismo[42] e contribui na neovascularização, nomeadamente através da sobre-regulação do VEGF[31], sendo produzida tanto pelo DIV como pelas células infiltradas no tecido de granulação [43, 44]

A CXCL8 produzida no DIV também parece ter um papel estimulador no crescimento de capilares sanguíneos para o interior dos tecidos da HDIV, facilitando a sua reabsorção, sendo que a sua produção é significativamente superior em doentes com HDIVE, principalmente nos S.[45]

Do ponto de vista anatómico, ao nascimento, o DIV é dotado de suprimento vascular, principalmente ao nível da plataforma cartilaginosa e do AF. Contudo, esses vasos cedo sofrem regressão, deixando o DIV com um escasso ou nulo suprimento sanguíneo direto no adulto saudável.[46, 47] A invasão do espaço do DIV por vasos sanguíneos pode facilitar a introdução de citocinas, fatores de crescimento, células e outras substâncias que influenciam a reabsorção tecidual e os subsequentes processos de reparação do DIV lesado.[36]

Porém, esta neovascularização não parece ser apenas produzida pela resposta inflamatória, mas também durante o processo degenerativo que precede em muitos casos a herniação.[9] Durante a degeneração do DIV ocorre um processo de neovascularização nas áreas circundantes do AF,[47, 48] sendo este capaz de induzir possivelmente devido ao seu conteúdo em substâncias solúveis indutoras da angiogénese. Tal não se constata na plataforma cartilaginosa, o que pode ser o motivo pelo qual as HDIV com grande quantidade de plataforma cartilaginosa não serem tão eficazmente absorvidas.[49] Esta evidência é suportada pelo estudo de *Shan et al.*, que recorrendo à classificação de *Modic*[50], onde são usadas as diferenças de intensidade de sinal das plataformas cartilagíneas na visualização por RMN, descreveu as diferenças na tendência para a reabsorção nas HDIV e os seus possíveis intervenientes. As hérnias dos grupos *Modic Changes* (MC) possuem mais cartilagem hialina, com menor conteúdo em NP e invasão vascular que os grupos não-MC. Nesse estudo foi também verificado uma maior abundância de capilares e macrófagos nas amostras de tecido herniado dos grupos não-MC. Os proteoglicanos, presentes em maior quantidade nos tecidos cartilaginosos, inibem a angiogénese, pelo que a sua perda encoraja a neovascularização e a tendência para a reabsorção do tecido herniado, demonstrada nos grupos não-MC.[48]

Na verdade, verifica-se a diminuição de proteoglicanos na maioria das HDIV, particularmente nas HDIVE, sendo esta mais proeminente nas porções adjacentes ao tecido de granulação[51] e estando fortemente associada à neovascularização.[36, 48]

Após a exposição do NP verifica-se uma neoformação de vasos sanguíneos, provavelmente devido à sua continuidade com o plexo venoso e tecido adiposo presentes no espaço epidural.[16, 52] Mas o grau de neovascularização parece estar intimamente ligado com o tipo de HDIV.[53] As HDIVE são expostas com maior facilidade à circulação sanguínea e, conseqüentemente, a uma maior quantidade de células imunes, o que provavelmente leva à reabsorção por fagocitose dos tecidos herniados, existindo uma maior probabilidade de regressão espontânea da HDIV.[9, 16, 27, 54, 55] A infiltração no conteúdo herniado por vasos sanguíneos pode ocorrer através do LLP,[55] mas na verdade, quando a porção do NP da massa herniada perfura o LLP ocorre uma reação de neovascularização mais exuberante.[56] O conteúdo herniado é rodeado e infiltrado por vasos recém-formados a partir do tecido adiposo epidural, sendo posteriormente invadido por macrófagos e outras células do sistema imune.[27, 37, 55] Nesta perspetiva vários autores especulam que a neovascularização e a infiltração de células imunes na periferia de tecidos herniados, estejam implicadas nas diferenças observados entre os vários tipos de HDIV e no conseqüente processo de reabsorção. [5, 9, 16, 27, 37, 51, 54, 55, 57]

5. Quimiotaxia de células imunes

Na sequência do que foi descrito para a neovascularização e formação de tecido de granulação, *Doita et al.* verificou que ocorreria um aumento do número de células mononucleadas do sangue periférico ligadas à superfície de HDIV, em comparação com HDIVC. Conclui que estas células mononucleadas, sobretudo monócitos, seriam essenciais no despoletar de uma resposta imunológica ao exercer um papel regulatório na produção de uma variedade de mediadores capazes de recrutar novos monócitos para as HDIV.[32, 58] O DIV humano também parece ser dotado de propriedades quimiotáticas, produzindo muitos destes fatores promotores do recrutamento de várias células imunes, chamados de quimiocinas.[45, 59] Assim, o recrutamento de monócitos circulatórios para material herniado resulta da interação entre as quimiocinas produzidas pelo próprio IVD e a sua ligação a receptores da superfície dos monócitos. Os monócitos são assim ativados localmente, diferenciando-se em macrófagos.[19, 60]

Portanto, numa primeira fase são as próprias células do NP a recrutar macrófagos através da produção de quimiocinas. É de destacar que a presença de macrófagos no tecido de granulação, na periferia do material herniado ou mesmo invadindo o NP e o AF, surge apenas após a expressão de quimiocinas sugerindo a necessidade destas no recrutamento de macrófagos.[59, 61, 62] Após infiltração nos fragmentos de disco herniado, os macrófagos vão também produzir quimiocinas com consequente aumento da sua população. [63] A produção conjunta dos fatores entre as células do NP e os macrófagos é mais relevante do que quando isolados, o que leva a crer que existe um feedback positivo entre ambos os elementos celulares, à semelhança do que já foi descrito para os fatores angiogénicos.

Estas quimiocinas parecem ser primariamente reguladas por citocinas pró-inflamatórias em resposta à agressão. A produção local de citocinas como a IL-1 β e o TNF α parece ser parte essencial do processo ao mediar indiretamente a regulação das quimiocinas envolvidas na quimiotaxia de células imunes.[63, 64] Após a extrusão da HDIV, numa fase anterior à expressão de quimiocinas, o TNF α e a IL-1 β são produzidos de novo nas células do DIV, estimulando a expressão de quimiocinas. [43, 62] (Figura 1)

Relativamente às quimiocinas propriamente ditas, tanto as células imunes infiltradas nos tecidos de granulação como as células do DIV são capazes de expressar CCL2[45, 57, 59, 62, 63, 65], CCL3[57, 66], CCL7[60, 63] e CXCL8[43-45, 63]. Isoladamente as células do DIV expressam CCL8[63] e CCL13[60]. (Tabela 1)

Efetivamente, está comprovado o papel do CCL2[45, 59, 61, 62, 65], CCL3[57, 66], CCL7[67], CCL8[67] e CCL13[67] na capacidade de provocar o recrutamento e migração de células inflamatórias, pelo que as restantes quimiocinas poderão ter um papel regulatório intermediário no processo quimiotático. Há um aumento da expressão de CCL2[45, 57], CCL3[57, 66] e CXCL8[45] nas HDIV, pelo que estas parecem aumentar ainda mais com a severidade da HDIV.[57]

6. Resposta Imune

Os primeiros passos foram dados em 1952, quando *Hirsch et al.* verificou a formação de um tecido de granulação altamente vascularizado após a rotura do AF com extrusão do seu conteúdo além do LLP. Observou a posterior constituição de uma cicatriz fibrosa no local lesado do AF.[46] Posteriormente em 1965, *Bobechko et al.* observou a ocorrência de uma reação imune do tipo corpo estranho à colocação de fragmentos de

NP autógeno em locais vascularizados, com a produção de anticorpos.[68] Efetivamente, o perfil da ativação inflamatória e imunológica apresentada pelo HDIV parece variar desde a degeneração aos diversos graus de herniação.[69]

a. Imunidade Inata: perspectiva inflamatória

A resposta imune inata parece relacionar-se numa primeira fase com uma reação inflamatória típica de corpo estranho em resposta à exposição do conteúdo do DIV. Como já foi referenciado previamente, o contacto entre o fragmento herniado do DIV e o espaço epidural parece ser o gatilho para despoletar a resposta imunológica através da infiltração de células inflamatórias e da neovascularização no local, com consequente formação de um tecido de granulação na periferia do tecido herniado.[54, 61, 65, 70, 71] Os vasos recém-formados têm um papel essencial na passagem de células inflamatórias infiltrativas. Os infiltrados celulares foram mais proeminentes no NP do que no AF.[54] Esta infiltração celular é composta por macrófagos[54, 57, 62, 65, 72], neutrófilos[62] e alguns linfócitos T[54, 57, 62, 65]. Nestes estudos, raramente foram encontrados linfócitos B. [54, 57, 62, 65]

Kagawachi et al. através de uma análise imunofenotípica de infiltrados inflamatórios de HDIV verificou que nenhum dos infiltrados continha linfócitos, monócitos ou células dendríticas, enquanto todos os infiltrados examinados continham macrófagos em abundância.[73]

A infiltração celular com formação do tecido de granulação é acompanhada de fibrose e relaciona-se inversamente com o tamanho dos DIV herniados,[62] existindo uma tendência na redução de tamanho com o tempo.[65]

A citotoxicidade das células imunes em relação às células do NP também foi alvo de estudo. *Murai et al.*, cultivou células autólogas de NP juntamente com células imunes do mesmo indivíduo e verificou que a citotoxicidade para as células autólogas do NP foi proporcional à quantidade de células NK e macrófagos. Linfócitos T CD4+ e linfócitos T CD8+ não obtiveram efeitos citotóxicos nas células NP. Tendo em conta a citotoxicidade das células imunes, os alvos moleculares e a sua localização nas células NP permanecem indefinidos. De seguida, testaram a sobrevivência das células NP transplantadas em ratinhos imunocomprometidos e em ratinhos com o sistema imune preservado. Constataram que passados 3 meses um pequeno número células transplantadas sobreviveu no grupo imunocomprometido, enquanto nenhuma sobreviveu passadas 3 semanas no grupo com o sistema imune preservado. Não se verificou a migração de linfócitos T para as células NP, contudo observou-se a migração de células NK e macrófagos. Esta evidência demonstra que o NP é sensível a células imunes. Neste estudo os macrófagos não mostraram ser células residentes transformadas, mas células infiltrativas. Em conclusão, as células do NP provocam uma resposta imune inata, pelo que ao reconhecer o NP autólogo transplantado os macrófagos e as células NK parecem ter uma função imunológica precoce quando o NP é exposto ao sistema imune.[74]

Está demonstrado que há uma implicação da imunidade inata, nomeadamente através de uma resposta inflamatória no processo de reabsorção das HDIV. A maioria dos autores considera que esta reação inflamatória se deve à exposição do NP ao sistema imune, com uma consequente reação tipo corpo-estranho. Contudo alguns autores sugerem que aquela reação é uma resposta inflamatória normal a um tecido lesado, envolvida no processo geral de reparação e reconstrução tecidular, rejeitando a hipótese de existir um fenómeno de autoimunidade na regressão espontânea das HDIV.[73, 75]

b. Imunidade Adquirida: perspectiva autoimune

O reconhecimento de antígenos por células apresentadoras de antígenos (APC) representa um passo importante no despoletar de uma resposta imune adaptativa. Após a captura do antígeno, as APC migram para os tecidos linfoides periféricos apresentando o antígeno aos linfócitos T CD4+ *naïve*. [19, 76] O NP herniado parece representar o local onde os antígenos são expostos ao sistema imune. Deste modo, dado o DIV ser avascular, apenas quando ele é exposto à circulação sanguínea e, por sua vez, ao sistema imune, é que os antígenos derivados do NP podem migrar para os tecidos linfoides e sofrer a tolerância imunológica. [77] Quando esta tolerância imunológica não ocorre, é iniciada uma resposta imune adaptativa mediada por células. Os macrófagos e as células dendríticas são exemplos de APC. [19, 76]

Geiss et al. observou que nos infiltrados de sequestros de HDIV as células dendríticas plasmocitóides (PDC) e os linfócitos T de memória eram detetados em proporções significativamente superiores em relação aos macrófagos, revelando a predominância das PDC neste tipo de hérnia. Concluindo, estas descobertas são indicativas que as PDC estão envolvidas na iniciação de uma resposta autoimune específica direcionada ao NP herniado, enquanto os macrófagos, além de reforçarem esta resposta pelas suas propriedades enquanto APC, medeiam a reabsorção do DIV através das suas propriedades fagocíticas. [78]

Em estudos imunohistoquímicos de material herniado proveniente de discectomia, a infiltração de células inflamatórias mostrou ser formada por macrófagos e linfócitos T, sendo estes originários dos vasos sanguíneos presentes na periferia das HDIV. [9]

O corpo humano encontra-se num balanço imune de linfócitos T efetores, regulando positiva ou negativamente as respostas imunes específicas, respetivamente através de linfócitos T CD4+ e linfócitos T CD8+. O rácio linfócitos T CD4+/CD8+ representa o balanço da imunidade, pelo que qualquer alteração deste corresponde a uma provável desregulação da resposta imune específica. [19, 79, 80]

Tian et al. através da realização de citometria de fluxo do sangue periférico colhido em doentes com HDIV, observou que ocorreria um aumento significativo da quantidade de linfócitos T CD4+, assim como o aumento do rácio de linfócitos T CD4+/CD8+, acompanhados de uma diminuição da quantidade de linfócitos T CD8+, em comparação a doentes sem HDIV. [79, 80] No caso dos linfócitos T CD4+ e do rácio linfócitos T CD4+/CD8+ a sua quantidade era significativamente superior nas HDIV em relação às HDIVC e aos controlos, respetivamente. [79] Estas evidências indicam que ocorrem alterações no sistema imune após a HDIV, principalmente quando ocorre extrusão do conteúdo herniado através do LLP, apoiando a hipótese relacionada com a resposta autoimune específica. [79, 80]

A HDIV ao sofrer extrusão é invadida por células inflamatórias, que através da libertação de citocinas e quimiocinas, parecem promover uma resposta Th1 com supressão da resposta Th2. [21] O resultado é a violação do estado imunoprivilegiado ocorrendo uma resposta inflamatória por reação imune direta ao DIV herniado. [21]

Os linfócitos Th1 secretam altos níveis de IL-2, TNF α e IFN γ que ativam macrófagos e promovem respostas celulares imunologicamente mediadas. Os linfócitos Th2 produzem uma variedade de citocinas anti-inflamatórias, incluindo IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13. [69]

A IL-4 é capaz de suprimir citocinas derivadas dos monócitos, incluindo TNF α , IL-1 β , IL-6, CXCL8 e a CCL3. Podemos observar que as protusões do DIV se relacionam

com um predomínio da concentração sérica IL-4, enquanto as extrusões do DIV com o predomínio de TNF α . [81] Localmente, as concentrações de IFN γ e IL-12 foram superiores nas HDIVE, ao contrário da IL-4, em que a sua concentração foi superior nas HDIVC. [21] A positividade para o IFN γ , a presença de macrófagos e o aumento de celularidade no DIV parece traduzir resposta do tipo Th1 na HDIV. [82] A análise do plasma sérico demonstrou significativamente um aumento dos níveis de fatores pro inflamatórios (IL-1 β , IL-2, IL-12, IFN γ e TNF α) e uma diminuição dos níveis de IL-4 em indivíduos com evidência de HDIV, em comparação aos indivíduos sem a patologia. Apesar de numerosos fatores afetarem os níveis no sangue periférico, uma total avaliação do sistema imune poderá ser útil na definição do tratamento médico na HDIV. [69] Uma nota final para o papel da citocina proinflamatória IL-2, que está aumentada em HDIV, possuindo um papel patogénico no prolapso de DIV, nomeadamente através da promoção da apoptose celular e da degradação da matriz extracelular no NP de DIV. [83]

Num outro estudo, *Geiss et al.* verificou que o NP autólogo transplantado subcutaneamente atrai uma proporção significativamente elevada de linfócitos T (com maior proporção de linfócitos T CD4+ em comparação aos linfócitos T CD8+) e linfócitos B ativados expressando a imunoglobulina *kappa*. Observaram também uma grande quantidade de células T CD45RC imunorreativas, indicando a presença de linfócitos T de memória. A grande expressão de linfócitos B expressando cadeias leves *kappa* de IgG aponta mais para a presença de linfócitos B de memória, do que de plasmócitos produtores de autoanticorpos. Este estudo permitiu confirmar que o NP herniado atrai linfócitos T e B, mimetizando a sua exposição aquando da herniação do DIV, e mostrando a sua potencialidade para gerar uma reposta imune específica devido às suas propriedades autoimunes. Os linfócitos T CD4+ e linfócitos B devem estar envolvidos nesta resposta, [84] pelo que a sua prevalência é superior nos sequestros comparativamente às extrusões. [72]

A ativação de linfócitos T representa o marco na geração de uma possível resposta autoimune, levando subsequentemente à diferenciação de linfócitos B. [84]

A quantidade de linfócitos T e macrófagos, assim como as concentrações de imunoglobulinas IgM e IgG no sangue periférico, foram superiores em pacientes com HDIVE comparativamente àqueles com protusões. [79]

Satoh et al. verificou através de estudos imunohistoquímicos do conteúdo de tecido herniado a existência de complexos antigénio-anticorpo localizados na cápsula pericelular dos condrócitos da HDIV. Tais complexos não foram observados nas amostras de NP não herniado dos mesmos doentes e no grupo de controlo. Os autores sugerem que a IgG é o anticorpo primário, ligando-se a estruturas específicas no tecido da HDIV. Contudo, afirmam que o antigénio responsável é desconhecido. [85]

Verificou-se que a IgM e a IgG são depositadas em redor dos vasos recém-formados e do NP das HDIV, concluindo que estas imunoglobulinas possuem um papel importante na resposta imune do HDIV. [79]

7. Fagocitose

Independentemente do processo imune subjacente, é de algum modo consensual que a reabsorção espontânea ocorre através da fagocitose do tecido herniado, mediada pelos macrófagos. [61, 62, 65, 86, 87] As principais ações mediadas pelos macrófagos parecem decorrer da sua poderosa atividade fagocítica e secretora de enzimas com um papel na digestão e degradação do material herniado. [62]

Ikeda et al. verificou a existência de proteínases em redor dos infiltrados macrófagos.[54] Estas enzimas, maioritariamente metaloproteínases da matriz (MMP), ADAMTS ou catepsinas, estão envolvidas na degradação da matriz extracelular do NP através do seu papel na decomposição de colagénio, agreganos e proteoglicanos.[54, 55, 61, 71]

As quimiocinas além de influenciarem a infiltração de macrófagos, parecem também promover a ativação das MMP.[33, 43, 59, 61, 62, 65-67] A produção MMP é regulada por inibidores tecidulares da metaloproteínase 1 (TIMP1), glicoproteínas naturalmente produzidas no DIV que inibem as MMP.

De um modo geral os macrófagos expressam caracteristicamente MMP7[33, 86, 88, 89] e MMP3[33, 90]. Por sua vez, as células do DIV expressam caracteristicamente MMP3[33, 89, 91, 92], TIMP1[92], MMP7[86, 91] e MMP1[93] (Tabela 1)

A elevação dos níveis de MMP, principalmente de MMP3, ocorre paralelamente ao aumento do número de macrófagos.[33, 61, 87] As MMP1 e MMP3 estão envolvidas na formação do tecido de granulação, na degradação e na reabsorção dos tecidos da HDIV.[71] (Figura 2)

No tecido do DIV saudável a expressão de MMP1 é superior à de MMP3, contudo diminui com a evolução da degeneração do DIV, tornando-se os níveis de ambas as MMP similares num estado avançado da degeneração. Quando ocorre herniação do DIV os níveis de MMP3 tornam-se superiores aos de MMP1, indicando que a reabsorção do tecido herniado parece estar mais dependente da MMP3.[93]

A produção de MMP1[58], MMP3[58, 90, 92] e MMP7[86] aumentam significativamente quando o NP herniado é exposto ao espaço epidural, estando aumentadas nas HDIVE em comparação às HDIVC.

Haro et al. através de um modelo de cocultura de macrófagos de ratinhos com tecidos do DIV, relacionou a expressão de MMP7, MMP3 e TNF α pelos macrófagos com a redução do peso da amostra de tecido do DIV e a sua reabsorção. Concluiu que a produção de MMP7 por macrófagos é requerida para a indução de MMP3 no DIV e este efeito é mediado por uma via de sinalização que envolve o TNF α . O efeito da MMP7 não foi direto na síntese de TNF α , mas na sua libertação na superfície celular.[88] Temporalmente ocorre primeiro a expressão de TNF α , seguindo-se a expressão de uPA, de MMP7 e de MMP3. A uPA ativa as formas latentes de MMP3 e MMP7.[89] O TNF α é assim necessário, mas não suficiente, para a reabsorção do DIV.[88]

O TNF α induz a produção de MMP3 nas células do DIV de forma significativa [58, 88, 91, 94]comparativamente, a IL-1 β apresenta um efeito mais modesto na indução da MMP3, sendo esta mais responsiva ao TNF α . [88, 94]

Quando estimuladas com IL-1 β e TNF α , as HDIVE produzem uma maior quantidade de MMP1 e MMP3 do que as HDIVC.[58] Os macrófagos produzem TNF α e MMP7, resultando na libertação de mais TNF α . [88] Ocorre assim a consequente produção de MMP3 pelas células do DIV que contribui para a geração de fatores promotores da migração de macrófagos, através do seu papel na comunicação condrócito/macrófago.[33, 88, 91] O papel da expressão de MMP3 na degradação dos diversos componentes da matriz do DIV[94] parece estar mais relacionado com a mediação da interação célula-célula do que com a própria degradação da matriz dos tecidos herniados.[33] A MMP7 apesar de ser necessária para a libertação de TNF α e, indiretamente, para a infiltração de macrófagos no tecido do DIV,[88] é uma enzima potente envolvida na degradação direta dos tecidos de HDIV. Neste sentido, foi demonstrado que a MMP7 leva uma diminuição significativa, enquanto a MMP3

origina apenas uma diminuição relativa do peso das amostras no modelo estudado.[70] A indução da MMP3 nas células do DIV foi necessária, mas não suficiente, para ocorrer degradação da matriz no modelo de reabsorção da HDIV.[33]

Os autores especulam que as várias famílias de proteínases atuem em conjunto ao mediar a destruição da cartilagem no processo de reabsorção do HDIV.[86, 88]

As catepsinas são proteínases de serina produzidas pelas células do DIV independentemente da infiltração de macrófagos, ao contrário das MMP. O pico da quantidade de catepsinas G e L ocorre antes da invasão do DIV por macrófagos, sendo o pico da catepsina L mais tardio do que o da catepsina G. A catepsina G e a CCL2(=MCP1) parecem ativar-se antes do início do processo de reabsorção dependente dos macrófagos. Estas parecem influenciar a própria infiltração de macrófagos e a ativação das MMP produzidas por eles mesmo. Efetivamente, estas catepsinas ativam as MMP latentes e degradam TIMP. A localização da catepsina G e das MMP foi semelhante, o que reforça esta evidência.[61]

As ADAMTS4/5 são importantes enzimas envolvida na degradação de agregados.[51, 95, 96] Os macrófagos dos tecidos de granulação expressam ADAMTS4, sugerindo o seu envolvimento na regressão da HDIV. A contagem de macrófagos e a expressão de ADAMTS4 foi significativamente superior nas HDIVE, comparando com as HDIVC, pelo que estas evidências poderão explicar a razão pela qual as primeiras são mais rapidamente reabsorvidas.[51] Tanto a ADAMTS4, como a ADAMTS5 são necessárias para a degradação dependente de citocinas nas células do NP humano, pelo que a sua função não parece ser redundante, sugerindo o seu papel em patologias do DIV.[96]

Conclusão

Ainda existe controvérsia em relação ao tipo de imunidade implicada na reabsorção das HDIV, ficando os autores com a impressão que quer a imunidade inata, quer a imunidade específica podem estar ambas implicadas. É de algum modo consensual que no processo de reabsorção das HDIV estão envolvidos fenómenos de neovascularização, quimiotaxia de células imunes e formação de um tecido de granulação, culminando na fagocitose onde várias famílias de proteínases atuam em conjunto para destruir o material herniado.

Foram encontrados fatores que se associam a uma maior probabilidade de reabsorção como as HDIVE, o maior volume e intensidade de sinal do material herniado, enquanto que por outro lado um maior conteúdo de plataforma cartilágnea e a associação a alterações *Modic* influenciam negativamente aquele processo.

Bibliografia

1. Hoy, D., et al., *A systematic review of the global prevalence of low back pain*. Arthritis Rheum, 2012. **64**(6): p. 2028-37.
2. Walker, B.F., *The prevalence of low back pain: a systematic review of the literature from 1966 to 1998*. J Spinal Disord, 2000. **13**(3): p. 205-17.
3. Simon, J., et al., *Discogenic low back pain*. Phys Med Rehabil Clin N Am, 2014. **25**(2): p. 305-17.
4. Bozzao, A., et al., *Lumbar disk herniation: MR imaging assessment of natural history in patients treated without surgery*. Radiology, 1992. **185**(1): p. 135-41.
5. Komori, H., et al., *The natural history of herniated nucleus pulposus with radiculopathy*. Spine (Phila Pa 1976), 1996. **21**(2): p. 225-9.

6. Macki, M., et al., *Spontaneous regression of sequestered lumbar disc herniations: Literature review*. Clin Neurol Neurosurg, 2014. **120**: p. 136-41.
7. Zhong, M., et al., *Incidence of Spontaneous Resorption of Lumbar Disc Herniation: A Meta-Analysis*. Pain Physician, 2017. **20**(1): p. E45-E52.
8. Buckwalter, J.A., *Aging and degeneration of the human intervertebral disc*. Spine (Phila Pa 1976), 1995. **20**(11): p. 1307-14.
9. Arai, Y., et al., *Immunohistological study of intervertebral disc herniation of lumbar spine*. J Orthop Sci, 2000. **5**(3): p. 229-31.
10. Molinos, M., et al., *Inflammation in intervertebral disc degeneration and regeneration*. J R Soc Interface, 2015. **12**(108): p. 20150429.
11. Slavin, K.V., et al., *Spontaneous regression of a large lumbar disc herniation: report of an illustrative case*. Surg Neurol, 2001. **56**(5): p. 333-6; discussion 337.
12. Henmi, T., et al., *Natural history of extruded lumbar intervertebral disc herniation*. J Med Invest, 2002. **49**(1-2): p. 40-3.
13. Citisli, V. and M. Ibrahimoglu, *Spontaneous remission of a big subligamentous extruded disc herniation: case report and review of the literature*. Korean J Spine, 2015. **12**(1): p. 19-21.
14. Splendiani, A., et al., *Spontaneous resolution of lumbar disk herniation: predictive signs for prognostic evaluation*. Neuroradiology, 2004. **46**(11): p. 916-22.
15. Sari, H., et al., *Computed tomographic evaluation of lumbar spinal structures during traction*. Physiother Theory Pract, 2005. **21**(1): p. 3-11.
16. Ito, T., et al., *Histologic evidence of absorption of sequestration-type herniated disc*. Spine (Phila Pa 1976), 1996. **21**(2): p. 230-4.
17. Liu, Z.H., et al., *FasL expression on human nucleus pulposus cells contributes to the immune privilege of intervertebral disc by interacting with immunocytes*. Int J Med Sci, 2013. **10**(8): p. 1053-60.
18. Sun, Z., et al., *FasL on human nucleus pulposus cells prevents angiogenesis in the disc by inducing Fas-mediated apoptosis of vascular endothelial cells*. Int J Clin Exp Pathol, 2013. **6**(11): p. 2376-85.
19. Abbas, A., A. Lichtman, and S. Pillai, *Cellular and Molecular Immunology*. 9th ed. 2018, Philadelphia: Elsevier.
20. Park, J.B., H. Chang, and K.W. Kim, *Expression of Fas ligand and apoptosis of disc cells in herniated lumbar disc tissue*. Spine (Phila Pa 1976), 2001. **26**(6): p. 618-21.
21. Park, J.B., H. Chang, and Y.S. Kim, *The pattern of interleukin-12 and T-helper types 1 and 2 cytokine expression in herniated lumbar disc tissue*. Spine (Phila Pa 1976), 2002. **27**(19): p. 2125-8.
22. Nerlich, A.G., et al., *Immunolocalization of phagocytic cells in normal and degenerated intervertebral discs*. Spine (Phila Pa 1976), 2002. **27**(22): p. 2484-90.
23. Chen, Y.F., et al., *Insights into the hallmarks of human nucleus pulposus cells with particular reference to cell viability, phagocytic potential and long process formation*. Int J Med Sci, 2013. **10**(13): p. 1805-16.
24. Rade, M., et al., *Vertebral Endplate Defect as Initiating Factor in Intervertebral Disc Degeneration; Strong Association between Endplate Defect and Disc Degeneration in the General Population*. Spine (Phila Pa 1976), 2017.

25. Rajasekaran, S., et al., *ISSLS Prize winner: The anatomy of failure in lumbar disc herniation: an in vivo, multimodal, prospective study of 181 subjects*. Spine (Phila Pa 1976), 2013. **38**(17): p. 1491-500.
26. Sahoo, M.M., et al., *Significance of Vertebral Endplate Failure in Symptomatic Lumbar Disc Herniation*. Global Spine J, 2017. **7**(3): p. 230-238.
27. Ahn, S.H., M.W. Ahn, and W.M. Byun, *Effect of the transligamentous extension of lumbar disc herniations on their regression and the clinical outcome of sciatica*. Spine (Phila Pa 1976), 2000. **25**(4): p. 475-80.
28. Seo, J.Y., et al., *Three-dimensional analysis of volumetric changes in herniated discs of the lumbar spine: does spontaneous resorption of herniated discs always occur?* Eur Spine J, 2016. **25**(5): p. 1393-1402.
29. Autio, R.A., et al., *Determinants of spontaneous resorption of intervertebral disc herniations*. Spine (Phila Pa 1976), 2006. **31**(11): p. 1247-52.
30. Ohba, T., et al., *TNF-alpha-induced NF-kappaB signaling reverses age-related declines in VEGF induction and angiogenic activity in intervertebral disc tissues*. J Orthop Res, 2009. **27**(2): p. 229-35.
31. Binch, A.L., et al., *Expression and regulation of neurotrophic and angiogenic factors during human intervertebral disc degeneration*. Arthritis Res Ther, 2014. **16**(5): p. 416.
32. Doita, M., et al., *Immunohistologic study of the ruptured intervertebral disc of the lumbar spine*. Spine (Phila Pa 1976), 1996. **21**(2): p. 235-41.
33. Haro, H., et al., *Matrix metalloproteinase-3-dependent generation of a macrophage chemoattractant in a model of herniated disc resorption*. J Clin Invest, 2000. **105**(2): p. 133-41.
34. Li, X., et al., *Action of fibroblast growth factor-2 on the intervertebral disc*. Arthritis Res Ther, 2008. **10**(2): p. R48.
35. Tolonen, J., et al., *Basic fibroblast growth factor immunoreactivity in blood vessels and cells of disc herniations*. Spine (Phila Pa 1976), 1995. **20**(3): p. 271-6.
36. Melrose, J., et al., *Increased nerve and blood vessel ingrowth associated with proteoglycan depletion in an ovine annular lesion model of experimental disc degeneration*. Spine (Phila Pa 1976), 2002. **27**(12): p. 1278-85.
37. Minamide, A., et al., *Effects of basic fibroblast growth factor on spontaneous resorption of herniated intervertebral discs. An experimental study in the rabbit*. Spine (Phila Pa 1976), 1999. **24**(10): p. 940-5.
38. Montesano, R., et al., *Basic fibroblast growth factor induces angiogenesis in vitro*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1986. **83**(19): p. 7297-301.
39. Tsarouhas, A., et al., *Molecular profile of major growth factors in lumbar intervertebral disc herniation: Correlation with patient clinical and epidemiological characteristics*. Mol Med Rep, 2017. **15**(4): p. 2195-2203.
40. Haro, H., et al., *Vascular endothelial growth factor (VEGF)-induced angiogenesis in herniated disc resorption*. J Orthop Res, 2002. **20**(3): p. 409-15.
41. Koike, Y., et al., *Angiogenesis and inflammatory cell infiltration in lumbar disc herniation*. Spine (Phila Pa 1976), 2003. **28**(17): p. 1928-33.
42. Deng, X., et al., *Elevated interleukin-6 expression levels are associated with intervertebral disc degeneration*. Exp Ther Med, 2016. **11**(4): p. 1425-1432.

43. Walter, B.A., et al., *Inflammatory Kinetics and Efficacy of Anti-inflammatory Treatments on Human Nucleus Pulposus Cells*. Spine (Phila Pa 1976), 2015. **40**(13): p. 955-63.
44. Takada, T., et al., *Intervertebral disc and macrophage interaction induces mechanical hyperalgesia and cytokine production in a herniated disc model in rats*. Arthritis Rheum, 2012. **64**(8): p. 2601-10.
45. Burke, J.G., et al., *Spontaneous production of monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-8 by the human lumbar intervertebral disc*. Spine (Phila Pa 1976), 2002. **27**(13): p. 1402-7.
46. Hirsch, C. and F. Schajowicz, *Studies on structural changes in the lumbar annulus fibrosus*. Acta Orthop Scand, 1952. **22**(1-4): p. 184-231.
47. Roberts, S., et al., *Histology and pathology of the human intervertebral disc*. J Bone Joint Surg Am, 2006. **88 Suppl 2**: p. 10-4.
48. Shan, Z., et al., *Spontaneous resorption of lumbar disc herniation is less likely when modic changes are present*. Spine (Phila Pa 1976), 2014. **39**(9): p. 736-44.
49. Carreon, L.Y., et al., *Neovascularization induced by anulus and its inhibition by cartilage endplate. Its role in disc absorption*. Spine (Phila Pa 1976), 1997. **22**(13): p. 1429-34; discussion 1446-7.
50. Modic, M.T., et al., *Degenerative disk disease: assessment of changes in vertebral body marrow with MR imaging*. Radiology, 1988. **166**(1 Pt 1): p. 193-9.
51. Hatano, E., et al., *Expression of ADAMTS-4 (aggrecanase-1) and possible involvement in regression of lumbar disc herniation*. Spine (Phila Pa 1976), 2006. **31**(13): p. 1426-32.
52. Olmarker, K., *Neovascularization and neoinnervation of subcutaneously placed nucleus pulposus and the inhibitory effects of certain drugs*. Spine (Phila Pa 1976), 2005. **30**(13): p. 1501-4.
53. Ratsep, T., A. Minajeva, and T. Asser, *Relationship between neovascularization and degenerative changes in herniated lumbar intervertebral discs*. Eur Spine J, 2013. **22**(11): p. 2474-80.
54. Ikeda, T., et al., *Pathomechanism of spontaneous regression of the herniated lumbar disc: histologic and immunohistochemical study*. J Spinal Disord, 1996. **9**(2): p. 136-40.
55. Kobayashi, S., et al., *Ultrastructural analysis on lumbar disc herniation using surgical specimens: role of neovascularization and macrophages in hernias*. Spine (Phila Pa 1976), 2009. **34**(7): p. 655-62.
56. Ozaki, S., et al., *Neovascularization of the outermost area of herniated lumbar intervertebral discs*. J Orthop Sci, 1999. **4**(4): p. 286-92.
57. Haro, H., et al., *Upregulated expression of chemokines in herniated nucleus pulposus resorption*. Spine (Phila Pa 1976), 1996. **21**(14): p. 1647-52.
58. Doita, M., et al., *Influence of macrophage infiltration of herniated disc tissue on the production of matrix metalloproteinases leading to disc resorption*. Spine (Phila Pa 1976), 2001. **26**(14): p. 1522-7.
59. Kikuchi, T., et al., *Monocyte chemoattractant protein-1 in the intervertebral disc. A histologic experimental model*. Spine (Phila Pa 1976), 1998. **23**(10): p. 1091-9.

60. Kawaguchi, S., et al., *Chemokine profile of herniated intervertebral discs infiltrated with monocytes and macrophages*. Spine (Phila Pa 1976), 2002. **27**(14): p. 1511-6.
61. Meng, W., et al., *Localization of cathepsins G and L in spontaneous resorption of intervertebral discs in a rat experimental model*. J Musculoskelet Neuronal Interact, 2001. **2**(2): p. 171-6.
62. Yoshida, M., et al., *Intervertebral disc cells produce tumor necrosis factor alpha, interleukin-1beta, and monocyte chemoattractant protein-1 immediately after herniation: an experimental study using a new hernia model*. Spine (Phila Pa 1976), 2005. **30**(1): p. 55-61.
63. Phillips, K.L., et al., *The cytokine and chemokine expression profile of nucleus pulposus cells: implications for degeneration and regeneration of the intervertebral disc*. Arthritis Res Ther, 2013. **15**(6): p. R213.
64. Huang, K.Y., et al., *IL-20 may contribute to the pathogenesis of human intervertebral disc herniation*. Spine (Phila Pa 1976), 2008. **33**(19): p. 2034-40.
65. Haro, H., et al., *Sequential dynamics of monocyte chemotactic protein-1 expression in herniated nucleus pulposus resorption*. J Orthop Res, 1997. **15**(5): p. 734-41.
66. Wang, S.L., et al., *Effects of TGF-beta1 and IL-1beta on expression of ADAMTS enzymes and TIMP-3 in human intervertebral disc degeneration*. Exp Ther Med, 2013. **6**(6): p. 1522-1526.
67. Moen, A., et al., *Inflammatory Serum Protein Profiling of Patients with Lumbar Radicular Pain One Year after Disc Herniation*. Int J Inflam, 2016. **2016**: p. 3874964.
68. Bobechko, W.P. and C. Hirsch, *Auto-Immune Response to Nucleus Pulposus in the Rabbit*. J Bone Joint Surg Br, 1965. **47**: p. 574-80.
69. Akyol, S. and M. Hanci, *TH1 and TH2 Cytokines Production and NK Cell Level Assessment in Peripheral Blood of Patients with DDH*. Indian J Surg, 2013. **75**(4): p. 294-7.
70. Haro, H., et al., *Experimental studies on the effects of recombinant human matrix metalloproteinases on herniated disc tissues--how to facilitate the natural resorption process of herniated discs*. J Orthop Res, 2005. **23**(2): p. 412-9.
71. Matsui, Y., et al., *The involvement of matrix metalloproteinases and inflammation in lumbar disc herniation*. Spine (Phila Pa 1976), 1998. **23**(8): p. 863-8; discussion 868-9.
72. Habtemariam, A., et al., *Inflammatory cells in full-thickness anulus injury in pigs. An experimental disc herniation animal model*. Spine (Phila Pa 1976), 1998. **23**(5): p. 524-9.
73. Kawaguchi, S., et al., *Immunophenotypic analysis of the inflammatory infiltrates in herniated intervertebral discs*. Spine (Phila Pa 1976), 2001. **26**(11): p. 1209-14.
74. Murai, K., et al., *Primary immune system responders to nucleus pulposus cells: evidence for immune response in disc herniation*. Eur Cell Mater, 2010. **19**: p. 13-21.
75. Zhou, G., et al., *Effects of human midkine on spontaneous resorption of herniated intervertebral discs*. Int Orthop, 2010. **34**(1): p. 103-8.

76. Villadangos, J.A. and L. Young, *Antigen-presentation properties of plasmacytoid dendritic cells*. Immunity, 2008. **29**(3): p. 352-61.
77. Geiss, A., et al., *Autologous nucleus pulposus primes T cells to develop into interleukin-4-producing effector cells: an experimental study on the autoimmune properties of nucleus pulposus*. J Orthop Res, 2009. **27**(1): p. 97-103.
78. Geiss, A., et al., *Plasmacytoid dendritic cells and memory T cells infiltrate true sequestrations stronger than subligamentous sequestrations: evidence from flow cytometric analysis of disc infiltrates*. Eur Spine J, 2016. **25**(5): p. 1417-1427.
79. Ma, X.L., et al., *A study of the relationship between type of lumbar disc herniation, straight leg raising test and peripheral T lymphocytes*. Orthop Surg, 2010. **2**(1): p. 52-7.
80. Tian, P., et al., *Correlation between radiculalgia and counts of T lymphocyte subsets in the peripheral blood of patients with lumbar disc herniation*. Orthop Surg, 2009. **1**(4): p. 317-21.
81. Zu, B., et al., *Serum Levels of the Inflammatory Cytokines in Patients with Lumbar Radicular Pain Due to Disc Herniation*. Asian Spine J, 2016. **10**(5): p. 843-849.
82. Shamji, M.F., et al., *Proinflammatory cytokine expression profile in degenerated and herniated human intervertebral disc tissues*. Arthritis Rheum, 2010. **62**(7): p. 1974-82.
83. Wang, Z., et al., *Interleukin-2 is upregulated in patients with a prolapsed lumbar intervertebral disc and modulates cell proliferation, apoptosis and extracellular matrix metabolism of human nucleus pulposus cells*. Exp Ther Med, 2015. **10**(6): p. 2437-2443.
84. Geiss, A., et al., *Autoimmune properties of nucleus pulposus: an experimental study in pigs*. Spine (Phila Pa 1976), 2007. **32**(2): p. 168-73.
85. Satoh, K., et al., *Presence and distribution of antigen-antibody complexes in the herniated nucleus pulposus*. Spine (Phila Pa 1976), 1999. **24**(19): p. 1980-4.
86. Haro, H., et al., *Up-regulated expression of matrilysin and neutrophil collagenase in human herniated discs*. J Spinal Disord, 1999. **12**(3): p. 245-9.
87. Weiler, C., et al., *2002 SSE Award Competition in Basic Science: expression of major matrix metalloproteinases is associated with intervertebral disc degradation and resorption*. Eur Spine J, 2002. **11**(4): p. 308-20.
88. Haro, H., et al., *Matrix metalloproteinase-7-dependent release of tumor necrosis factor-alpha in a model of herniated disc resorption*. J Clin Invest, 2000. **105**(2): p. 143-50.
89. Kato, T., et al., *Sequential dynamics of inflammatory cytokine, angiogenesis inducing factor and matrix degrading enzymes during spontaneous resorption of the herniated disc*. J Orthop Res, 2004. **22**(4): p. 895-900.
90. Haro, H., et al., *Chemonucleolysis with human stromelysin-1*. Spine (Phila Pa 1976), 1997. **22**(10): p. 1098-104.
91. Bachmeier, B.E., et al., *Matrix metalloproteinase expression levels suggest distinct enzyme roles during lumbar disc herniation and degeneration*. Eur Spine J, 2009. **18**(11): p. 1573-86.
92. Tsuru, M., et al., *Electron microscopic observation of established chondrocytes derived from human intervertebral disc hernia (KTN-1) and role of macrophages in spontaneous regression of degenerated tissues*. Spine J, 2001. **1**(6): p. 422-31.

93. Genevay, S., et al., *Influence of cytokine inhibitors on concentration and activity of MMP-1 and MMP-3 in disc herniation*. Arthritis Res Ther, 2009. **11**(6): p. R169.
94. Wang, X., et al., *Tumor necrosis factor-alpha- and interleukin-1beta-dependent matrix metalloproteinase-3 expression in nucleus pulposus cells requires cooperative signaling via syndecan 4 and mitogen-activated protein kinase-NF-kappaB axis: implications in inflammatory disc disease*. Am J Pathol, 2014. **184**(9): p. 2560-72.
95. Sun, Z., et al., *IL-1beta promotes ADAMTS enzyme-mediated aggrecan degradation through NF-kappaB in human intervertebral disc*. J Orthop Surg Res, 2015. **10**: p. 159.
96. Tian, Y., et al., *Inflammatory cytokines associated with degenerative disc disease control aggrecanase-1 (ADAMTS-4) expression in nucleus pulposus cells through MAPK and NF-kappaB*. Am J Pathol, 2013. **182**(6): p. 2310-21.

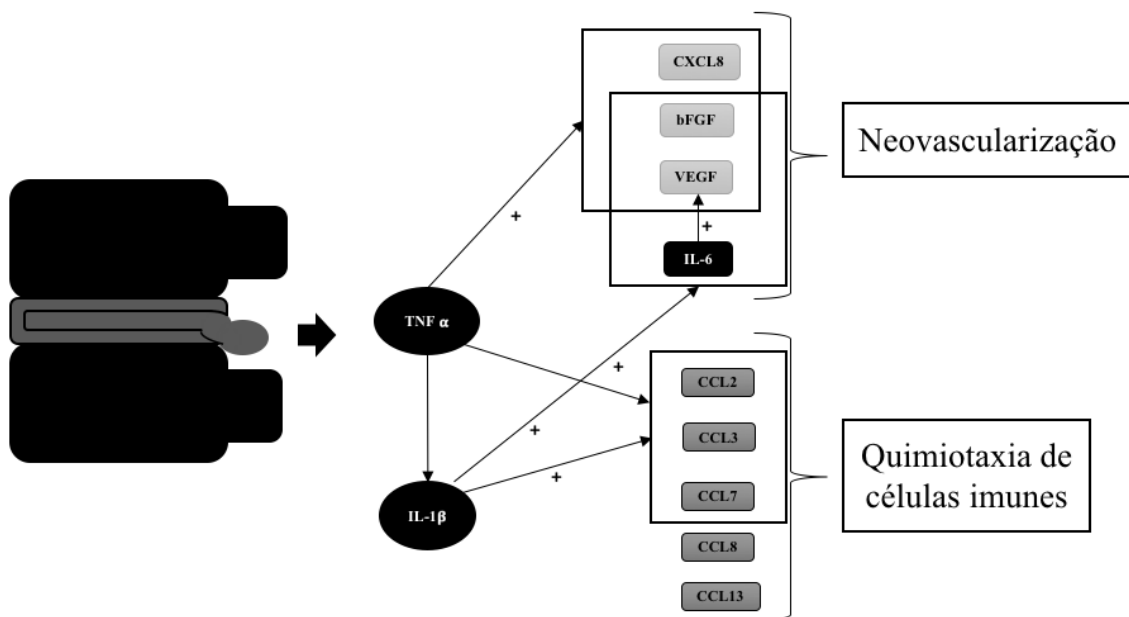


Figura 1 – Interação entre os mediadores envolvidos nos processos de neovascularização e quimiotaxia de células imunes após a ocorrência de HDIV. Legenda: $TNF\alpha$, tumor necrosis factor alpha; $IL-1\beta$, interleukin-1 beta; $IL-6$, interleukin-6; bFGF, basic fibroblast growth factor; VEGF, vascular endothelial growth factor; CCL, chemokine (C-C motif) ligand; CXCL, chemokine (C-X-C motif) ligand.

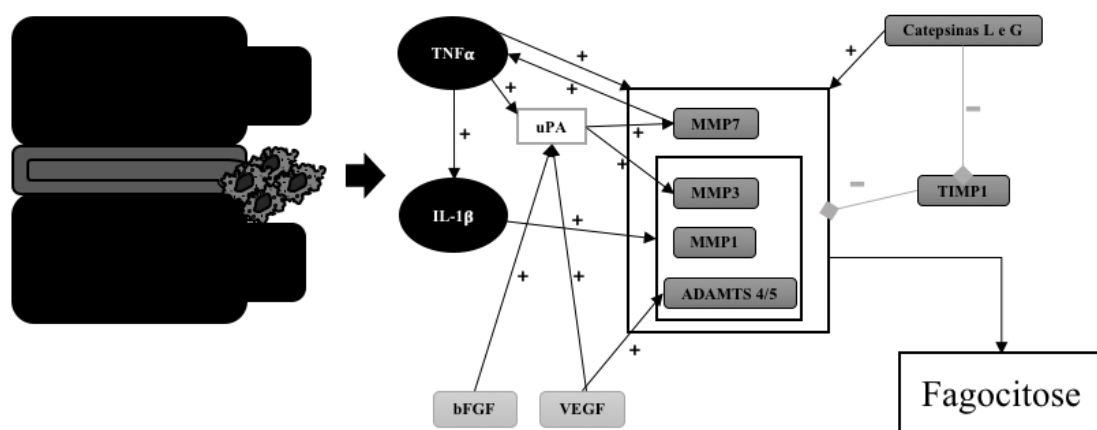


Figura 2 – Interação entre os mediadores envolvidos no processo de fagocitose na HDIV com o tecido de granulação já formado. Legenda: $TNF\alpha$, tumor necrosis factor alpha; $IL-1\beta$, interleukin-1 beta; bFGF, basic fibroblast growth factor; VEGF, vascular endothelial growth factor; uPA, urokinase-type plasminogen activator; MMP, matrix metalloprotease; ADAMTS, a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs; TIMP, tissue inhibitor of metalloproteinases.

Mediador	Local de produção	Função	Referências
Fatores envolvidos na neovascularização			
bFGF (=FGF2)	DIV	Promotor neovascularização; Papel da quimiotaxia de células imunes; Papel na atividade proteolítica da matriz extracelular do DIV.	[32, 34-38]
VEGF	DIV, macrófagos	Promotor neovascularização; Papel da quimiotaxia de células imunes.	[52-54]
CXCL8 (=IL-8)	DIV, tecido de granulação	Promotor neovascularização.	[32, 34, 35]
Quimiocinas			
CCL2 (=MCP1)	DIV, tecido de granulação	Quimiotaxia de células imunes.	[43-45, 59, 61-63, 65]
CCL3 (=MIP-1 α)	DIV, tecido de granulação	Quimiotaxia de células imunes.	[45, 57, 59, 62, 63, 65]
CCL7 (=MCP3)	DIV, tecido de granulação	Quimiotaxia de células imunes.	[57, 66, 67]
CCL8 (=MCP2)	DIV	Quimiotaxia de células imunes.	[60, 63]
CCL13 (=MCP4)	DIV	Quimiotaxia de células imunes.	[67]
Proteases			
TIMP1	DIV	Inibidor das MMP.	[92]
MMP1	DIV	Promotor da fagocitose.	[58, 71, 93]
MMP3	Macrófagos, DIV	Promotor da fagocitose.	[33, 62, 89-92]
MMP7	Macrófagos, DIV	Promotor da fagocitose.	[33, 86, 88, 89, 91]
Catepsinas L e G	DIV	Papel na infiltração de macrófagos e na ativação das MMP.	[61]
ADAMTS 4/5	Tecido de granulação	Promotor da fagocitose através da degradação de agregados.	[51, 95, 96]

Tabela 1- Local da produção e função dos principais mediadores envolvidos na neovascularização, quimiotaxia de células imunes e fagocitose no processo de reabsorção espontâneo de hérnias do disco intervertebral. Legenda: TNF α , *tumor necrosis factor alpha*; IL-1 β , *interleukin-1 beta*; IL-6, *interleukin-6*; IL-8, *interleukin-8*; bFGF, *basic fibroblast growth factor*; FGF2, *fibroblast growth factor 2*; VEGF, *vascular endothelial growth factor*; CCL, *chemokine (C-C motif) ligand*; CXCL, *chemokine (C-X-C motif) ligand*; TIMP, *tissue inhibitor of metalloproteinases*; MMP, *matrix metalloproteinase*; ADAMTS, *a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs*; MCP, *monocyte chemoattractant protein*; MIP-1 α , *macrophage inflammatory protein 1 α* .

Agradecimentos

Ao Doutor Jorge Alves, como meu orientador, pelo apoio, disponibilidade e paciência na elaboração desta monografia, e como meu irmão, por desde sempre ser o meu herói e modelo a seguir ao nível de valores, ambição, perseverança e resiliência.

Aos meus pais, não me indicarem o caminho, mas por me darem a escolher todos os caminhos possíveis para ser quem sou. Pelo conceito de família, pelo amor, pela educação, por nunca me terem falhado e estarem sempre com a alma aberta para me receber.

Aos meus amigos, pelos anos de curso e todas as memórias que para a vida vou recordar. Não somos a flor murcha, mas a sua rica semente.

À Ana Ascensão, pela colaboração na revisão do trabalho e por todo o apoio.

Ao Rambo, por ser o maior apaziguador do meu de estado de espírito e ser capaz de demonstrar os mais puros e inatos sentimentos que não encontro noutra forma de vida.

A todos os meus colegas de equipa e treinadores que acompanharam o meu percurso académico a par do percurso desportivo, pelo apoio incondicional.

À Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, pela formação profissional e humana.

Muito obrigado!

ANEXOS



PESQUISA AVANÇADA

REVISTA PORTUGUESA DE ORTOPEDIA E TRAUMATOLOGIA

PORTUGUESE JOURNAL OF ORTHOPAEDICS AND TRAUMATOLOGY

ISSN: 1646-2939

FASCÍCULO ATUAL

ARQUIVO

CONSELHO EDITORIAL

NORMAS DE PUBLICAÇÃO

REVISÃO DE ARTIGOS

SUBMISSÃO DE ARTIGOS

SUBSCRIÇÃO DE ALERTAS

COMENTÁRIOS/SUGESTÕES

NORMAS DE PUBLICAÇÃO

Informações Gerais

A Revista Portuguesa de Ortopedia e Traumatologia é a publicação científica da Sociedade Portuguesa de Ortopedia e Traumatologia (SPOT).

A Revista Portuguesa de Ortopedia e Traumatologia publica artigos na área da Ortopedia, Traumatologia e ciências afins.

A língua oficial da Revista é o português e a publicação de alguns artigos é bilingue em português e inglês. Os textos publicados em língua portuguesa e em conformidade com as regras do novo Acordo Ortográfico da Língua Portuguesa são convertidos pelo programa Lince (ILTEC© 2010) e estão devidamente assinalados.

Revisão Editorial

Os artigos submetidos para publicação são avaliados pelo Conselho de Redacção da Revista que faz uma revisão inicial quanto aos padrões mínimos de exigência da Revista Portuguesa de Ortopedia e Traumatologia e ao cumprimento das normas de publicação. O Conselho de Redacção solicita a apreciação do artigo por Revisores especialistas externos (“Peer review”). Os Revisores são sempre de instituições diferentes da instituição original do artigo e é-lhes ocultada a identidade dos autores e a sua origem.

O artigo poderá ser:

- **Aceite para publicação**, sem modificações;
- **Devolvido** aos autores com proposta de modificações;
- **Recusado para publicação**, sem interesse para a Revista Portuguesa de Ortopedia e Traumatologia.

No caso de serem propostas modificações, estas devem ser realizadas pelos autores no prazo de trinta dias.

As composição gráfica do artigo é enviada ao(s) autor(es), contendo a indicação do prazo de revisão, em função das necessidades de publicação da Revista, que não deve, no entanto, ultrapassar os cinco dias úteis. O desrespeito pelo prazo desobriga da aceitação da revisão dos autores, sendo a mesma efectuada exclusivamente pelos serviços da Revista.

Tipos de artigos publicados

Artigos Originais: incluem estudos controlados e randomizados, estudos de testes diagnósticos e de triagem e outros estudos descritivos e de intervenção, bem como pesquisa básica com interesse para a Ortopedia e Traumatologia. O texto deve ter entre 2.000 e 4.000 palavras, excluindo tabelas e referências. O número de referências não deve exceder 30.

Casos Clínicos: incluem relatos de casos clínicos ou situações singulares, doenças raras ou nunca descritas, assim como formas inovadoras de diagnóstico ou tratamento. O texto é composto por uma *introdução breve* sobre a importância do assunto e objectivos da apresentação do(s) caso(s); por um *relato resumido do caso*; e por *comentários* que discutem aspectos relevantes e comparam o relato com outros casos descritos na literatura. O número de palavras deve ser inferior a 2.000, excluindo referências e tabelas. O número de referências não deve exceder 15.

Artigos de Revisão: incluem revisões críticas e actualizadas da literatura em relação a temas de importância clínica. Nesta categoria incluem-se os estudos de meta-análises. São em geral escritos mediante convite do Editor, podendo ser propostos pelos autores. Devem limitar-se a 6.000 palavras, excluindo referências e tabelas. As referências bibliográficas deverão ser actuais e em número mínimo de 30 e máximo de 100.

Artigos de Ensino: incluem temas essencialmente didácticos dedicados à formação pós-graduada nas áreas de Ortopedia e Traumatologia. São em geral escritos mediante convite do Editor, podendo ser



propostos pelos autores.

Artigos de Investigação: incluem a apresentação de trabalhos de investigação básica ou clínica nas áreas de Ortopedia e Traumatologia ou afins.

Notas Técnicas: incluem a descrição de detalhada de técnicas cirúrgicas ou de outra natureza relacionada com a área de Ortopedia e Traumatologia.

Artigos Estrangeiros: são escritos a convite por Redactores Estrangeiros sobre temas da sua área de especialização.

Artigos Especiais: são textos não classificáveis nas categorias acima, que o Conselho de Redacção julgue de especial interesse para publicação. A sua revisão admite critérios próprios.

Cartas ao Editor: devem comentar, discutir ou criticar artigos publicados na Revista Portuguesa de Ortopedia e Traumatologia. O tamanho máximo é de 1.000 palavras, incluindo no máximo seis referências bibliográficas. Sempre que possível, uma resposta dos autores será publicada junto com a carta. O Conselho de Redacção também solicita aos Coordenadores das Secções e Presidentes das Sociedades afins da SPOT um comentário crítico a artigos seleccionados que foram publicados na Revista sob a forma de “**Fogo cruzado**”.

Instruções aos autores

Orientações gerais

O artigo (incluindo tabelas, ilustrações e referências bibliográficas) deve estar em conformidade com os requisitos uniformes para artigos submetidos a revistas biomédicas (“Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals”), publicado pelo Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas (ver a última actualização, de Abril de 2010, disponível em www.icmje.org).

Recomenda-se que os autores guardem uma versão do material enviado. Os materiais enviados não serão devolvidos aos autores.

Instruções para submissão online

1. A Revista Portuguesa de Ortopedia e Traumatologia dá preferência à submissão online de artigos no site da Revista Portuguesa de Ortopedia e Traumatologia.

2. Para submissão online os autores devem aceder ao site www.rpot.pt, seleccionar na opção RPOT a área de submissão (<http://www.webchairing.com/rpot/submission/>) e seguir integralmente as instruções apresentadas.

Orientações para cada secção do material a submeter:

Cada secção deve ser iniciada numa nova página, na seguinte ordem: página de rosto, resumo em português incluindo palavras-chave, resumo em inglês incluindo *keywords*, texto, agradecimentos, referências bibliográficas, tabelas (cada tabela completa, com título e notas de rodapé, em página separada), gráficos (cada gráfico completo, com título e notas de rodapé em página separada) e legendas das figuras.

Página de rosto:

A página de rosto deve conter todas as seguintes informações:

a) Título do artigo, conciso e informativo, evitando abreviaturas;

b) Título na língua inglesa;

c) Título abreviado (para constar no cabeçalho das páginas), com máximo de 100 caracteres, contando os espaços;

d) Nome de cada um dos autores (o primeiro nome e o último sobrenome devem obrigatoriamente ser informados por extenso; todos os demais nomes aparecem como iniciais);

e) Titulação mais importante de cada autor;

f) Nome, endereço postal, telefone, fax e endereço electrónico do autor responsável pela correspondência;

g) Nome, endereço postal, telefone, fax e endereço electrónico do autor responsável pelos contactos prévios à publicação;

h) Identificação da instituição ou serviço oficial ao qual o trabalho está vinculado;

i) Declaração de conflito de interesse (escrever "nada a declarar" ou declarar claramente quaisquer interesses económicos ou de outra natureza, que se possam enquadrar nos conflitos de interesse);

j) Identificação da fonte financiadora ou fornecedora de equipamento e materiais, quando for o caso;

Resumo:

O resumo deve ser submetido em duas línguas: português e inglês. O resumo deve ter no máximo 250 palavras. Todas as informações que aparecem no resumo devem aparecer também no artigo.

Abaixo do resumo, devem constar três a dez palavras-chave que auxiliarão a inclusão adequada do resumo nas bases de dados bibliográficas. As palavras-chave em inglês (*keywords*) devem preferencialmente estar incluídas na lista de "Medical Subject Headings", publicada pela U. S. National Library of Medicine, do National Institute of Health, e disponível em <http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html>

O resumo deve ser estruturado conforme descrito a seguir:

Resumo de artigo original:

Objectivo: Informar por que o estudo foi iniciado e quais foram as hipóteses iniciais, se houve alguma. Definir precisamente qual foi o objectivo principal e os objectivos secundários mais relevantes.

Material e Métodos: Informar sobre o desenho do estudo, o contexto ou local, os pacientes ou materiais e os métodos de trabalho e de obtenção de resultados.

Resultados: Informar os principais dados, intervalos de confiança e significado estatístico.

Conclusões: Apresentar apenas conclusões apoiadas pelos dados do estudo e que contemplem os objectivos, bem como sua aplicação prática.

Resumo de artigo de revisão:

Objectivo: Informar por que a revisão da literatura foi feita, indicando se foca algum factor em especial, como etiopatogenia, prevenção, diagnóstico, tratamento ou prognóstico.

Fontes dos dados: Descrever as fontes da pesquisa, definindo as bases de dados e os anos pesquisados. Informar sucintamente os critérios de selecção de artigos e os métodos de extracção e avaliação da qualidade das informações.

Síntese dos dados: Informar os principais resultados da pesquisa, sejam quantitativos ou qualitativos.

Conclusões: Apresentar as conclusões e suas aplicações clínicas, limitando generalizações aos domínios da revisão.

Resumo de caso clínico:

Objectivo: Informar por que o caso merece ser publicado, com ênfase nas questões de singularidade ou novas formas de diagnóstico e tratamento.

Descrição: Apresentar sinteticamente as informações básicas do caso, com ênfase nas mesmas questões singularidade.

Comentários: Conclusões sobre a importância do caso clínico e as perspectivas de aplicação prática das abordagens inovadoras.

Texto:

O texto dos artigos originais deve conter as seguintes secções, cada uma com o seu respectivo subtítulo:

a) Introdução: sucinta, citando apenas referências estritamente pertinentes para mostrar a importância do tema e justificar o trabalho. No final da introdução, os objectivos do estudo devem ser claramente descritos.

b) Material e Métodos: descrever a população estudada, a amostra e os critérios de selecção; definir claramente as variáveis e detalhar a análise estatística; incluir referências padronizadas sobre os métodos estatísticos e informação de eventuais programas de computação. Procedimentos, produtos e equipamentos utilizados devem ser descritos com detalhes suficientes para permitir a reprodução do estudo. Deve incluir-se declaração de que todos os procedimentos tenham sido aprovados pela comissão de ética da instituição a que está vinculado o trabalho.

c) Resultados: devem ser apresentados de maneira clara, objectiva e com sequência lógica. As informações contidas em tabelas ou figuras não devem ser repetidas no texto. Deve-se preferir o uso de gráficos em vez de tabelas quando existe um número muito grande de dados.

d) Discussão: deve interpretar os resultados e compará-los com os dados já descritos na literatura, enfatizando os aspectos novos e importantes do estudo. Devem-se discutir as implicações dos achados e as suas limitações, bem como a necessidade de pesquisas adicionais. As conclusões devem ser apresentadas no final da discussão, levando em consideração os objectivos iniciais do estudo.

O texto dos artigos de revisão não obedece a um esquema rígido de secções.

O texto dos casos clínicos deve conter as seguintes secções, cada uma com o seu respectivo subtítulo:

a) *Introdução*: apresenta de modo sucinto o que se sabe a respeito da patologia em questão e quais são as práticas actuais de abordagem diagnóstica e terapêutica.

b) *Descrição do(s) caso(s)*: o caso é apresentado com detalhes suficientes para o leitor compreender toda a evolução e os seus factores condicionantes. Quando o artigo descrever mais de um caso, sugere-se agrupar as informações em tabela.

c) *Discussão*: apresenta correlações do(s) caso(s) com outros descritos e a sua importância para a prática clínica.

Agradecimentos:

Devem ser breves e objectivos, somente a pessoas ou instituições que contribuíram significativamente para o estudo, mas que não tenham preenchido os critérios de autoria. Os integrantes da lista de agradecimento devem dar a sua autorização por escrito para a divulgação de seus nomes, uma vez que os leitores podem supor seu endosso às conclusões do estudo.

Referências bibliográficas:

As referências bibliográficas devem ser numeradas e ordenadas segundo a ordem de aparecimento no texto, no qual devem ser identificadas pelos algarismos árabes respectivos entre parêntesis. Se houver mais de 6 autores, devem ser citados os seis primeiros nomes seguidos de "et al". Os títulos de revistas devem ser abreviados de acordo com o estilo usado no Index Medicus,. Uma lista extensa de periódicos, com as suas respectivas abreviaturas, está disponível através da publicação da NLM "List of Serials Indexed for Online Users" em **<http://www.nlm.nih.gov/tsd/journals>**.

As referências bibliográficas devem estar em conformidade com os requisitos uniformes para artigos submetidos a revistas biomédicas (“Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals”), publicado pelo Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas (estão disponíveis exemplos de referências bibliográficas em:

http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Listam-se em seguida alguns exemplos de referência bibliográfica:

1. Artigo padrão

Halpern SD, Ubel PA, Caplan AL. Solid-organ transplantation in HIV-infected patients. N Engl J Med. 2002;347:284-7.

2. Livro

Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Medical microbiology. 4th ed. St. Louis: Mosby; 2002.

3. Capítulo de livro

Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations in human solid tumors. In: Vogelstein B, Kinzler KW, editors. The genetic basis of human cancer. New York: McGraw-Hill; 2002. p. 93-113.

4. Teses e dissertações

Borkowski MM. Infant sleep and feeding: a telephone survey of Hispanic Americans [dissertation]. Mount Pleasant (MI): Central Michigan University; 2002.

5. Trabalho apresentado em congresso ou similar (publicado)

Christensen S, Oppacher F. An analysis of Koza's computational effort statistic for genetic programming. In: Foster JA, Lutton E, Miller J, Ryan C, Tettamanzi AG, editors. Genetic programming. EuroGP 2002: Proceedings of the 5th European Conference on Genetic Programming; 2002 Apr 3-5; Kinsdale, Ireland. Berlin: Springer; 2002. p. 182-91.

6. Artigo de revista eletrónica

Abood S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. Am J Nurs [serial on the internet]. 2002 Jun [cited 2002 Aug 12];102(6):[about 3 p.]. Available from: **<http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>**.

7 Sítio na Internet

Cancer-Pain.org [homepage on the Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01 [updated 2002 May 16; cited 2002 Jul 9]. Available from: **<http://www.cancer-pain.org/>**.

Artigos aceites para publicação, mas ainda não publicados, podem ser citados desde que seguidos da indicação “in press”. Observações não publicadas e comunicações pessoais não podem ser citadas como referências; se for imprescindível a inclusão de informações dessa natureza no artigo, elas devem ser seguidas pela observação "observação não publicada" ou "comunicação pessoal" entre parênteses no corpo do artigo.

Tabelas:

Cada tabela deve ser apresentada em folha separada, numerada na ordem de aparecimento no texto, e com um título sucinto, porém explicativo. Todas as notas explicativas devem ser apresentadas em notas de rodapé e não no título, identificadas pelos seguintes símbolos, nesta sequência: *,†,‡,\$,||,, **,††,‡‡. As tabelas não devem conter linhas verticais ou horizontais a delimitar as células internas.

Figuras (fotografias, desenhos, gráficos):

Todas as figuras devem ser numeradas na ordem de aparecimento no texto. As notas explicativas devem ser apresentadas nas legendas. As figuras reproduzidas de outras fontes já publicadas devem indicar a fonte e ser acompanhadas por uma carta de permissão de reprodução do detentor dos direitos de autor. As fotografias não devem permitir a identificação do paciente ou devem ser acompanhadas de autorização por escrito para publicação.

As imagens em formato digital devem ser anexadas nos formatos TIFF ou JPEG, com resolução entre 300 e 600 ppp, dimensão entre 15cm e 20cm e a cores, para possibilitar uma impressão nítida. As figuras serão convertidas para o preto-e-branco só para efeitos de edição impressa. Caso os autores julguem essencial que uma determinada imagem seja colorida, solicita-se contacto com os editores. As imagens em formato de papel devem conter no verso uma etiqueta com o seu número, o nome do primeiro autor e uma seta indicando o lado para cima.

Legendas das figuras:

Devem ser apresentadas em página própria, devidamente identificadas com os respectivos números.

Abreviaturas, símbolos e acrónimos:

Devem ser evitados, principalmente no título e resumo. O termo completo expandido deve preceder o primeiro uso de uma abreviatura, símbolo ou acrónimo.

Unidades de medida:

Devem ser usadas as Unidades do Sistema Internacional (SI), podendo usar-se outras unidades convencionais quando forem de uso comum.